

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 2000002677 A

(43) Date of publication of application: 07 . 01 . 00

(51) Int. Cl.

G01N 25/16
G01N 21/41
G01N 27/447

(21) Application number: 10167603

(22) Date of filing: 15 . 06 . 98

(71) Applicant: ASAHI CHEM IND CO LTD

(72) Inventor: MUKOYAMA SHIGEMI
SHIMOIDE KOJI

(54) ANALYZER

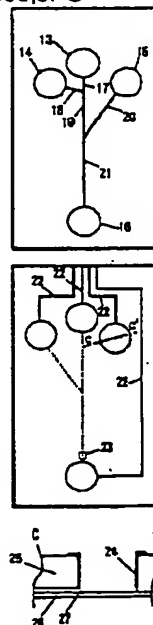
(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain an analyzer whose disposability and mass productivity are excellent and which is low-cost and small by forming a groove on the surface of an organic polymer flat board, irradiating a liquid inside the groove with exciting light, and measuring a change in physical quantity due to the partial temperature change of the liquid.

SOLUTION: An organic polymer flat board 25 in which grooves 17 to 21 for capillary molding are provided on the surface and which is 120 cm long, 80 cm wide and 5 mm thick, is molded, and liquid reservoirs 13 to 16 are formed on the opposite side of the grooves 17 to 21. A resin sheet 26 is pasted onto the flat board 25, interconnections 22 and an electrode 24 are formed, and a capillary device is formed. Then, a buffer solution is dropped into the liquid reservoir 16, and the grooves 17 to 21 are filled with the buffer solution. After that, a reagent is dropped into the liquid reservoirs 14, 15, and a specimen is dropped into the liquid reservoir 13. Then, the capillary device is placed on the stage of an inverter microscope, a voltage is applied to the electrode 24, an electroosmotic flow is generated to the liquid reservoir 16 from the liquid reservoirs 13 to 15, the specimen and the reagent are mixed and reacted in

the grooves 17 to 19 so as to be guided to a detection part 23, a laser for excitation is irradiated, and the specimen is detected by a photothermal conversion method.

COPYRIGHT: (C)2000,JPO



THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-2677

(P2000-2677A)

(43) 公開日 平成12年1月7日(2000.1.7)

(51) Int.Cl.⁷

識別記号

F I

テマコード(参考)

G 0 1 N 25/16

G 0 1 N 25/16

C 2 G 0 4 0

21/41

21/41

Z 2 G 0 5 9

27/447

27/26

3 3 1 E

審査請求 未請求 請求項の数9 OL (全 13 頁)

(21) 出願番号

特願平10-167603

(22) 出願日

平成10年6月15日(1998.6.15)

(71) 出願人 000000033

旭化成工業株式会社

大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号

(72) 発明者 向山 滋美

神奈川県川崎市川崎区夜光1丁目3番1号

旭化成工業株式会社内

(72) 発明者 下出 浩治

静岡県富士市鮫島2番地の1 旭化成工業株式会社内

(74) 代理人 100066980

弁理士 森 哲也 (外3名)

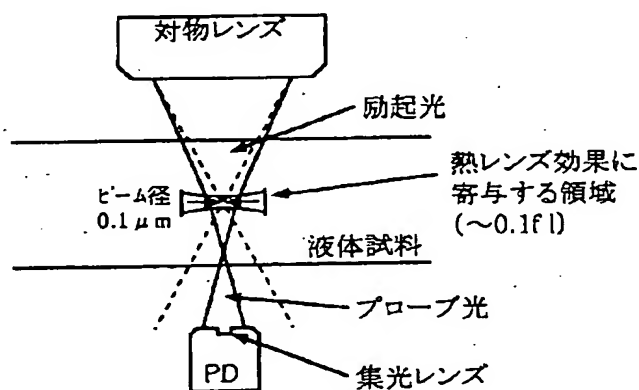
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 分析装置

(57) 【要約】

【課題】廃棄物性に優れ安価で簡便かつ短時間に分析が出来、POCに適した分析装置を提供する。

【解決手段】表面に液体が流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板を有するチップと、チップ上の溝内の液体の少なくとも一部分に励起光を照射して、前記液体の部分的な温度変化に伴う物理量変化を計測する光熱変換検出装置とからなることを特徴とする分析装置。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 表面に液体が流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板を有するチップと、チップの溝内の液体の少なくとも一部分に励起光を照射して、前記液体の部分的な温度変化に伴う物理量変化を計測する光熱変換検出装置とからなることを特徴とする分析装置。

【請求項2】 一对の板状部材から成り、少なくとも一方の板状部材は表面に液体が流れる溝を有する有機ポリマー製の平板である、該平板状装置の該流路を内側にし、張り合わせてつくられるチップと、溝内の前記液体の少なくとも一部分に励起光を照射し、さらに、チップ表裏面の一方側からプローブ光を照射して、前記液体の部分的な温度変化に伴う物理量変化を、チップ表裏の他方において検出計測する光熱変換検出装置とからなることを特徴とする分析装置。

【請求項3】 一对の板状部材の両方がプローブ光を透過する素材からなり、板状部材の少なくとも一方が、励起光を透過する素材からなる請求項2に記載の分析装置。

【請求項4】 前記物理量変化が屈折率変化であり、前記屈折率変化により形成される熱レンズにプローブ光を入射させ、前記熱レンズから出力される前記プローブ光を測定することを特徴とする請求項1～3のいずれか一つに記載の分析装置。

【請求項5】 圧縮成形法によって成形された有機ポリマー製の平板を用いることを特徴とする請求項1～4のいずれか一つに記載の分析装置。

【請求項6】 エンボス成形法によって成形された有機ポリマー製の平板を用いることを特徴とする請求項1～4のいずれか一つに記載の分析装置。

【請求項7】 射出成形法によって成形された有機ポリマー製の平板を用いることを特徴とする請求項1～4のいずれか一つに記載の分析装置。

【請求項8】 炭酸ガス存在下で射出成形された有機ポリマー製の平板を用いることを特徴とする請求項1～4のいずれか一つに記載の分析装置。

【請求項9】 分析対象が生物学的材料に由来する液体試料であることを特徴とする請求項1～8のいずれか一つに記載の分析装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、簡便な微量試料の分析、検出に関わる。

【0002】

【従来の技術】 医療診断に必要な測定を患者近傍で行うベッドサイド診断や、河川や廃棄物中の有害物質分析を測定対象側で行う分析、さらには食品の調理、収穫、輸入現場における汚染検査など、point of care(POC)の分析、検出法、装置の開発が重要となってきた。こうしたPOC分析においては、安価で簡便かつ短時間での測

定法が求められる。

【0003】 微量試料の分析、検出には、従来から、キャピラリーガスクロマトグラフィー(CGC)、キャピラリー液体クロマトグラフィー(CLC)等で分離し質量分析計で検出するGCMS、LCMSが広く用いられてきたが、検出器の質量分析計が大きく測定機器が大型であると共に操作が煩雑なため即時現場測定分析(POC)には向いていない。

【0004】 また、10センチから数センチ角程度以下のガラスやシリコンのチップ表面に溝を刻んで、その溝での分離、反応を利用して、微量試料の分析を行う μ TAS (micro total analysis system)の研究(特開平2-245655)も進められている。

【0005】 μ TASでは、検体量、検出に必要な試薬量、検出に用いた消耗品等の廃棄物、廃液の量がいずれも少なくなる上、検出に必要な時間もおおむね短時間で済むという利点がある。

【0006】 しかし、溝を形成する素材、即ち、キャピラリーを形成する材質は、高い精度で微細加工ができるガラスやシリコンが一般的であるが、加工コストが高く、また、割れ易く取り扱いに注意を要する等の問題も有する。さらに、医療診断用途などでは、血液等の患者由来の検体が触れることもあり、ディスプレイにすることが望ましいが、ガラスやシリコンは不燃物であり廃棄処理上も問題を有する。

【0007】 上記のような問題点の改善を目指した研究として、樹脂でチップを作成する方法(R. M. McCormick et al. / Anal. Chem. Vol. 69, No. 14 (1997) 2626-2630)も提案されているが、その検出法は以下に述べる課題を有する蛍光法である。

【0008】 また、検出装置を中心に従来技術をさらに説明する。キャピラリー電気泳動装置に代表される、キャピラリー内を流れる試料の分析方法には、蛍光分光法(例えばS. C. Jakobson, et. al., Anal. Chem. Vol. 66, 4127-4132, 1994、特開平2-245655)、吸光度法(例えばN. Kuroda, et. al., J. Chromatogr., Vol. 798, 325-334, 1998)、化学発光法(例えばM. F. Regehr, et. al., J. Capillary Electrophor, Vol. 3, 117-124, 1996)などが一般的である。

【0009】 上記のうち、化学発光法、蛍光法は、各々被検出物質が酸化剤などの触媒の存在又は励起光により励起状態の化合物となり、この状態から、基底状態になる時のエネルギーが光として放出されるのを検出するものである。一方、吸光度法は、被検出物質を含む溶液に光を入射し透過光強度を測定し、その入射光強度に対する透過光強度の比を求めるものである。感度的には一般に吸光度法、蛍光法、化学発光法の順に高感度といわれる。

【0010】 化学発光反応としては、ルミノール、ルシ

ゲンニンなどによる方法が古くから知られている。化学発光反応は迅速で高感度であり、また、検出は光源を必要としないなどの利点を有するが、発光の減衰が急速であり、試薬が不安定、バックグラウンドが高いなどの欠点を有する。蛍光法も同様に反応系が古くから知られている利点はあるが、光学系として励起光光源、励起光と蛍光を分離する光学フィルターなどが必要となる。これら発光現象を利用する方法では、放射される光が四方に発散するため受光効率が良くなく、また、蛍光法の場合蛍光を発する収率が低いなど、微量試料の検出を行う場合の欠点を有する。吸光度法は、原理的に検出するのが入射光と透過光の比であるため、高精度の結果を得るためには光路長を長くとり、キャピラリーに垂直に光をあてるのではなく、流れ方向に光を当てる工夫もされている（例えば、特開平8-304339）が、平面チップ状のキャピラリーの場合、流れ方向の検出は容易ではなく、長光路を得るため検出セルの構造が複雑となる欠点を有する。

【0011】微量成分の別の検出法として、励起光で液体中の試料を励起していわゆる熱レンズを形成させ、プローブ光でその熱レンズの変化を検出する光熱変換法（熱レンズ法）が以前から知られている（特開昭60-174933、A. C. Boccara et al., Appl. Phys. Lett. 36, 130, 1980）。光熱変換法では、励起光により0.1 μm ~ 1mm 程度の厚みの熱レンズを形成させる。光路長が十分長く、たとえば1cm程度、取れる場合には、光熱変換法は、吸光度法や蛍光法に比べて、励起光とプローブ光の通常2種の光源が必要なことから、光熱変換法は一般には用いられていない。

【0012】ArレーザーとHe-Neレーザーを用いて光熱変換法（熱レンズ法）で検出を行い、溝が刻まれたチップの外部からポンプにより送液する、キャピラリー分析装置に適用した例もあるが（おんせきNo. 4, 280-284, 1997、M. Harada, et al., Anal. Chem. Vol. 65, 2938-2940, 1993、川西、他 日本分析化学会第44年会講演要旨集, p119, 1995）、溝を刻む素材としてガラスが使われている。しかし、ガラスでは、小型のキャピラリー装置を作るためには、半導体集積回路を作る技術を発展させた方法（フォトリソグラフィ技術とエッチング技術の組み合わせ）により、1枚ずつ、平板ガラス上に溝を形成しなくてはならず、製造工程において、多くの有害な薬品を使用すると共に、製造工程が長く、また半導体製造等に用いられる高価な大型設備を必要とする。さらに、ガラスは、割れ易く取り扱いに注意を要する等の問題も有すると共に、医療診断用途などでは、血液等の患者由来の検体が触れることもあり、ディスポーザブルにする事が望ましいが、ガラス素材は不燃物であり廃棄処理上も問題を有する。このため、安

価なPOC分析には適さない。

【0013】

【発明が解決しようとする課題】分析装置は、流路装置に小型平板状の装置が提案されるなど、POC分析を目指した研究開発が行われているが、未だに、取り扱いが容易で、経済性に優れ、汎用性が高く、且つ、高感度分析が可能で、さらに、流路装置と検出装置を合わせた分析装置として小型化が可能な分析装置はなく、POC分析に適した分析装置が望まれているのが現状である。また、医療診断用の分析に用いる場合には、使用後の流路装置（チップ）が、焼却等により廃棄処理できるなど廃棄処理性に優れていることも重要である。

【0014】本発明は、前記従来技術に鑑みて、取り扱いが容易で、廃棄性に優れ且つ量産性にも優れるチップと小型化が容易で且つ微量成分の高感度検出が可能な検出装置から成る、汎用性が高く安価な小型高感度分析装置の提供を目的としたものである。

【0015】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記の目標を達成すべく鋭意研究を行った結果、表面に溝を形成させた有機ポリマー製の平板を有するチップと溝を流れる液体中の検出対象を光熱変換法で検出する検出装置から成る光熱変換分析装置により、取り扱いが容易で且つ安価な小型高感度分析装置が作れることを見だし、本発明を完成した。

【0016】即ち本発明は、液体が流れる溝を表面に有する有機ポリマー製の平板を有する装置であって、溝内の液体に励起光を照射し、液体の部分的な温度変化に伴う物理量変化を計測することを特徴とする光熱変換分析装置を提供する。さらに言えば、一對の板状部材を備え、少なくとも一方の板状部材は有機ポリマーからなり、さらに、有機ポリマーからなる板状部材の表面に液体が流れる溝が形成され、これら板状部材が溝を内側に張り合わされて成るキャピラリー内の液体試料に、励起光を照射し、液体試料の部分的な温度変化に伴う物理量変化を計測することを特徴とする光熱変換分析装置を提供する。

【0017】精度良く成形された有機ポリマー固体からなるチップは、微量分析に適するとともに、安価に製造することが可能であると共に焼却により容易に廃棄処理する事が出来、ディスポーザブル用のチップとして有用である。また、溝の幅、深さが1-1000 μm 程度のキャピラリーでは、チップ面の上下（角度は必ずしもチップ面に垂直である必要はない）方向での、つまり、液体の流れと垂直または斜め方向での、光路長は溝の深さ程度までの短い光路長しか取ることが出来ないにもかかわらず、検出方法として光熱変換法を用いていることにより、微量の対象物質の高感度検出分析が可能である。

【0018】また、本発明の分析装置は、一對の板状部材の両方がプローブ光を透過する素材からなり、板状部

材の少なくとも一方が、励起光を透過する素材からなるチップと光熱変換検出装置とからなる分析装置とすることにより、従来の樹脂製チップを用いた分析装置では測定に困難があった紫外領域の吸収しかもたない検出対象物質も高感度での検出が可能であり汎用性の高い分析装置となる。このことは、生体物質の中には紫外領域の吸収しかもたないもの（つまり、人間の目には無色のもの）も多いため、医療診断用の分析に用いるためには非常に重要なことである。

【0019】ここで、紫外領域の吸収しかもたない物質の分析について、若干の補足説明を加える。有機ポリマー（樹脂）は、チップ素材として、ガラスよりも生産性、コスト、廃棄物処理、等の点で優れている。しかしながら、有機ポリマーは、一般には紫外領域で吸収がある。そのため、一般的な検出法である吸光度で、対象物質を検出しようとする、チップ素材による吸収が大きくなり正しい測定値が得られない。さらに、 $100\mu\text{m}$ 程度の光路長では、チップ素材が吸収しない波長を用いても微量検出は困難である。蛍光で検出する事も可能であるが、蛍光を発する物質に検出対象が限定され汎用性に乏しい。

【0020】それに対し、光熱変換検出法は、励起光を照射対象物質に吸収されれば、プローブ光の波長は、有機ポリマーが吸収しない長波を自由に選ぶことが可能である。一対の板状部材からなるチップにおいて、両方の板状部材が有機ポリマーが吸収しない波長、一般には可視光のプローブ光に対して『透明』であり、さらに、一対の平板のどちらか一方が、励起光に対し、対象物質の励起を起こすのに十分な透過度を有しておれば、汎用的な測定が可能となる。具体例で説明すると、一対の板状部材からなるチップが、溝を有する平板の厚みが $1\sim 5\text{mm}$ 程度の厚みであり、この平板に張り合わせる板状部材（シート）が $500\mu\text{m}$ 程度以下の薄いシートであり、このシートが励起光に対して高い透過率の素材から成っているチップの例では、励起光を薄いシート側から当てることにより、溝を有する平板が励起光に対して透過率が小さくても、検出対象物質を高感度で検出することが可能である。

【0021】本発明に係る分析装置は、有機ポリマーからなる板状部材で作成されるチップと、光熱変換法による検出システム（励起光、プローブ光の光源と、光量変化検出器、演算装置など）をその内部に有する検出装置からなり、該チップに検体を入れて、該検出装置にそのチップを装着して、該チップ内で分離、反応等を起こさせた後に、該検出装置の検出システムを用いて、検出対象物質を光熱変換法で検出する。

【0022】以下本発明を明細に説明する。

【0023】

【発明の実施形態】本発明の有機ポリマー製の平板の表面に有する液体の流れる溝の断面形状は、光熱変換法に

よる検出部以外は四角形、三角形等の多角形の形状、半円形、半楕円形等、特に形状は問わない。また、有機ポリマー製の平板が何種類かの異なった形状の溝を組み合わせる流路を表面に有していてもよい。溝の上面（開放面）の幅は、溝の下面（底）の幅と同じであるか又は広くてもよい。更に好ましくは、溝断面形状が四角形である。光熱変換法による検出部は、溝の上面と下面は平面であることが望ましい。

【0024】また、この溝は、あまり小さすぎると、微粒子により流れが乱される原因となり、また、あまり大きすぎると、多くの流路を1つの平板の表面に作る時に平板の面積を大きくしなければならなくなるため、幅が $1\sim 5000\mu\text{m}$ 、深さが $0.1\sim 3000\mu\text{m}$ 、断面積が $1\sim 15,000,000\mu\text{m}^2$ であることが望ましい。好ましくは、幅 $2\sim 500\mu\text{m}$ 、深さが $1\sim 500\mu\text{m}$ 、断面積が $2\sim 250000\mu\text{m}^2$ 、更には、 $2\sim 200\mu\text{m}$ 、深さが $1\sim 200\mu\text{m}$ 、断面積が $2\sim 40000\mu\text{m}^2$ であることが好ましい。

【0025】本発明の表面に液体が流れる溝を有する有機ポリマー製の平板は、その表面に有する溝の寸法精度は特に問わない。しかし、極微量成分の分析や定量分析等を行う上では、溝の寸法精度は優れていることが好ましく、操作の精度及び装置間の再現性を得るため、金型の凸形状（成形により転写され、平板では溝が形成される）に対し、幅および深さにおいては $\pm 5\%$ 以内、断面積においては $\pm 7\%$ 以内の寸法精度（寸法転写精度）を有することが好ましい。また、高精度の定量分析を行うためには、幅および深さが $\pm 2\%$ 以内、断面積が $\pm 4\%$ 以内の寸法精度を有することが更に好ましい。

【0026】本発明の表面に液体が流れる溝を有する有機ポリマー製の平板を有するチップの構造は、使用時の操作性や製造時の加工生産性等の点からは、一対の板状部材から成り、少なくとも一方の板状部材は表面に液体が流れる溝を有する平板であって、この平板と他方の板状部材を、該平板の溝を内側に張り合わせて作製される（キャピラリーを形成する）構造をとることが好ましい。また、液体が流れる溝に応じた貫通孔（板厚方向を貫通する孔）を有する平板（板状部材）1枚と、溝も溝に応じた貫通孔も無い板状部材2枚とからなり、溝に応じた貫通孔を有する平板を2枚の前記板状部材で挟んでキャピラリーを形成する構造をとることも可能である。また、表面に液体が流れる溝を有する平板（板状部材）のみからなり、溝の上面が開放されたままの構造をとることも可能である。

【0027】一対の板状部材から成り、少なくとも一方の板状部材は表面に液体が流れる溝を有する有機ポリマー製の平板である、該平板の該流路を内側に張り合わせてつくられる装置（以下キャピラリー装置と略する）は、液体または試料の入り口または出口のためおよび電極を付ける（送液を電気浸透流で行う場合及び/ま

たは溝内での電気泳動分離を行う場合) ための開口部を、張り合わせる2枚の板状部材のいずれかの板状部材に貫通孔の形で有していることが好ましい。貫通孔は、キャピラリー装置の各流路の端部に作られているか、または、張り合わせるもう1枚の板状部材側のキャピラリー装置の各流路の端部(としたい部分)と合致する部分に作られているのが望ましい。貫通孔の大きさは特に限定されるものではないが、開口直径0.1~数mm程度が好ましい。

【0028】本発明のキャピラリー装置は、上記の平板の少なくとも1枚を含む2枚の板状部材を、流路を内側にして、超音波融着、熱融着、ホットメルト接着剤やUV接着剤等の接着剤による接着、粘着剤による粘着、直接又は薄い弾性シートを介しての圧接等の方法で張り合わせてつくられる。溝を有していない板状部材としては、溝を有する平板に用いることができる後述の樹脂の中から選択された樹脂からなるシート(薄い板)あるいはガラスシート(薄いガラス板)等を用いることができる。この樹脂からなるシートの例としては、メタクリル樹脂シート、ポリカーボネートシート、ポリスチレンシート等が挙げられる。また、シートの厚みは、光熱変換分析の障害になることが無ければ、特に限定されるものではないが、0.05~数mm程度が好ましい。

【0029】さらに本発明の平板の流路には、一定量のサンプリングを主な目的とした流路部分、試薬や試料の混合を主な目的とした流路部分、試薬や試料の移送を主な目的とした流路部分など、部分毎に異なった操作を主な目的とした流路部分を作ることが出来る。電気浸透流を送液手段として用いる場合には上記のほかに電気泳動分離を主な目的とした流路部分を作ることにも出来る。ポンプ送液や電気浸透流などいずれの送液手段で送液する場合にも、当然1つの流路部分が複数の目的を兼ね備えていても良い。また、本発明の平板は、流路が、1つの操作を主な目的とした流路部分のみからなっているても良いが、複数の各々異なった操作を主な目的とした流路部分を組み合わせた流路となっていることにより、単なる定性分析ではなく、定量分析や反応などを伴うような高度な分析が可能な装置とする事が出来る。

【0030】一定量のサンプリング(分取)を主な目的とした流路部分の形状は、2本の流路が十字にクロスしている図1に示すような形状又は1本の流路に対し2本の流路が各々T字に合流する図2に示すような形状であり、好ましくは図2の形状である。一定量のサンプリングは、図1の形状の流路では、試料をまずAよりBに向かって流した後Bへの流れを止め、次に試料をAよりDに向かって一定時間流した後Aからの流れを止め、更にCからDに向かって液体を流すことにより行われる。この場合には、溝の断面積と流速と時間により一定量のサンプリングが行われる。また、図2の形状の流路では、試料をまずAよりBに向かって流した後流れを止め、次

にCからDに向かって液体を流すことにより行われる。この場合には、溝の断面積とT字状の流路の合流点EとT字状の流路の合流点Fの長さによって一定量のサンプリングが行われる。この形状では、溝が寸法精度良く作れていれば、液の流速や流した時間に関係することなく、溝の断面積とEとF間の長さによってのみ量が決まり、また、溝の断面積とEとF間の長さを変えることにより任意に量を設定できるためより好ましい一定量のサンプリング(分取)方法といえる。

【0031】試薬や試料の混合や希釈を主な目的とした流路部分の形状は、サンプリング(分取)と組み合わせて行う場合には、流路途中に幅が広い及び/または深さの深い形状(この部分は、mmオーダーからcmオーダーのサイズとすることが好ましいこともあるが)などが上げられ、いったん送液を止め拡散により液を均一化したり、機械的攪拌により液を均一化する等の均一化工程をとることが好ましい、特に、機械的に攪拌出来る構造(攪拌バーを入れておき、磁力により攪拌するなど)は、均一化に時間を必要とせず好ましい構造である。

【0032】また、流路構造により、試薬や試料の混合や希釈を行う場合の流路部分の形状は、1本の流路に他の流路を合流させた形状や1本の流路に複数本の流路を一カ所で合流させた形状などがある。1本の流れに他の流れまたは複数の流れを合流させ一本の流れとすることにより、混合操作や希釈操作を行うことが出来る。又、この時、各々の流量を変えることにより、異なった比率での混合や希釈も可能である。混合や希釈の比率は、ポンプでの送液の場合には、機械的に合流する各流路の流量を変えることが出来るし、又、電気浸透流での送液の場合には、合流する各流路の断面サイズや長さを変えたり、各流路への電圧のかけ方を変えたり、各流路キャピラリー内表面の荷電状態を表面処理等により変える事により合流する各流路の流量を変えることが出来る。この場合には、合流部分に邪魔板構造を設けたり、合流部の後に拡散により液を均一化する流路部分を有することが望ましい。液を均一化する流路部分は、直線の形状、蛇行状や渦巻き状に曲げられた形状などの形状が上げられる。

【0033】更に、上記とは逆に、1本の流れが、多数本に別れる流れ(流路を分岐)とする事により、分流を行うことも可能である。電気浸透流を送液手段として用いる場合の電気泳動分離を主な目的とした流路部分の形状としては、直線の形状、蛇行状や渦巻き状に曲げられた形状などの形状が上げられる。蛇行状や渦巻き状に曲げられた形状は、チップ長辺の長さより長い分離のための流路が得られるため、直線の形状より分離性能を上げる事が出来る。

【0034】本発明の分析装置の電気浸透流を送液駆動力とする分析装置構成の1例に以下に示す。分析装置の構成例として、試料の注入口、試料の出口、泳動液の入

り口、泳動液の出口の計4つの開口部、図2の形状の一定量のサンプリングのための流路および分離のための流路を有するキャピラリー電気泳動装置を使用した1つの例を説明する。各開口部には、電圧を印加するための細い白金電極が装着される。また、泳動液の出口の近傍（少し手前）に光熱変換検出計が配置される。光熱変換検出計は、溝の上方から励起光、プローブ光を照射する照射部と溝の下方で照射されたプローブ光を検出する検出部から構成され、励起光、プローブ光が溝を透過するように配置される。

【0035】試料の分析操作は、泳動液そして試料を入れた後、試料をまず試料入り口より試料出口に向かって流した後流れを止め、次に泳動液入り口から泳動液出口に向かって泳動液を流すことによりサンプリングを行い、ひき続き泳動液入り口から泳動液出口に向かって泳動液を流しサンプリングした試料を分離のための流路に導き試料の分離を行うと共に、分離された試料を検出するための流路（励起光、プローブ光が透過する溝部）に導き光熱変換検出装置（後述の検出装置の説明に於いて詳しい説明を行う）により検出（分析）が行える。

【0036】本発明のキャピラリー装置では、流路パターン（構成）を変えることにより、多くの目的で使うことが出来る。例えば、混合や分離を主な目的とした流路を中心に構成し定性分析用として、定量サンプリングを主な目的とした流路部分と分離を主な目的とした流路を組み合わせた構成としたり、定量混合を主な目的とした流路を中心に構成し分離を伴う定量分析用や反応を伴う定量分析用として、定量サンプリングを主な目的とした流路部分、混合を主な目的とした流路部分と分離を主な目的とした流路部分を組み合わせる構成とし反応を伴う定量分離分析用として、定量サンプリングを主な目的とした流路部分、混合を主な目的とした流路部分を主に組み合わせる構成とし分離をあまり伴わない分析用として、など多くの分析目的に使用できる。

【0037】本発明の有機ポリマーは、光熱変換検出に用いられる波長の光に対して透明性を有する樹脂であり、光熱変換検出で使用するプローブ光の波長で、好ましくは励起光とプローブ光両方の波長で透過率が80%以上好ましくは90%以上のものが良好に使用できる。プローブ光及び励起光の波長を考慮すると、一般的には、600nm～800nm好ましくは400nm～800nmの波長範囲で、ASTM D1003で測定した光線透過率が80%以上好ましくは90%以上のものが良好に使用できる。

【0038】また成形加工性も重要な要素であり、成形加工性の面から良好に使用できるのは、一般の溶融加工可能な透明性熱可塑性樹脂やUV硬化や熱硬化によって得られた透明性樹脂が上げられる。さらに良好に使用できるのは、表面に溝を有する平板を大量に且つ安価に加工成形出来る溶融加工可能な透明性熱可塑性樹脂であ

り、この中でも非結晶性熱可塑性樹脂、非結晶性樹脂が主成分の熱可塑性ポリマーアロイ、あるいは結晶化度が低い一部の結晶性熱可塑性樹脂である。特に良好に使用できるのは、硬質樹脂であり、具体的には、ポリスチレン、スチレン-アクリロニトリル共重合体等のスチレン系樹脂、ポリメチルメタクリレート、メチルメタクリレート-スチレン共重合体等のメタクリル樹脂、ポリカーボネート、ポリスルホン、ポリエーテルスルホン、ポリエーテルイミド、ポリアリレート、ポリメチルペンテン、ポリ塩化ビニル樹脂等である。

【0039】また、1, 3-シクロヘキサジエン系重合体も好適に用いられる。1, 3-シクロヘキサジエン系重合体は、ホモポリマーを使用することも可能であるが、共重合体を使用することもできる。この共重合体としては、1, 3-ブタジエン、イソプレン、1, 3-ペンタジエン、1, 3-ヘキサジエン等の鎖状共役ジエン系モノマー、スチレン、 α -メチルスチレン、p-メチルスチレン、1, 3-ジメチルスチレン、ビニルナフタレン、ビニルスチレン等のビニル芳香族系モノマー、メタクリル酸メチル、アクリル酸メチル、アクリロニトリル、メチルビニルケトン、 α -シアノアクリル酸メチル等の極性ビニルモノマー若しくはエチレンオキシド、プロピレンオキシド、環状ラクトン、環状ラクタム、環状シロキサン等の極性モノマー、またはエチレン、 α -オレフィン系モノマーとの共重合体が挙げられる。この場合の共重合比は、重量比で1, 3-シクロヘキサジエンモノマー/コモノマー=75/25～100/0が好ましい。光透過性の高いシクロヘキサジエン系ポリマーについては特願平9-277045中に詳細に記述されている。該ポリマーは、素材として、200nm以上の波長の吸収はほとんどなく、また、非晶性のC-Hポリマーなので、短波長の光源による検出も可能である。

【0040】本発明の表面に液体が流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板は、板状部材からの切削加工やレーザー等によるエッチング加工、型内でのモノマー及び/又はマクロモノマーのUV硬化や熱硬化、熱可塑性樹脂の溶融加工や塑性加工等の方法により成形できる。良好に使用できる成形加工方法は、表面に溝を有する平板を大量に且つ安価に成形加工出来ることから、熱可塑性樹脂の溶融加工や塑性加工である。さらに良好に使用できるのは、金型を用いた熱可塑性樹脂の射出成形法及び/又は圧縮成形法、エンボス成形法である。特に、樹脂の金型キャビティへの充填工程中に、金型に接する樹脂表面の固化温度を低下させつつ射出成形する射出成形法（特開平10-128783、特願平10-50719）は、生産性良く成形精度の高い微細な溝を有する有機ポリマー製の平板を作ることが出来るため特に好ましい成形方法と言える。この射出成形方法の具体例としては、キャビティー内に炭酸ガスを満たしておき射出成形する方法が上げられる。この場合の炭酸ガスの圧力

は、10MPa以下が好ましい。

【0041】また、成形直前に高周波誘導加熱で金型表面を加熱して成形する射出成形方法（特公昭62-58287、米国特許第4439492等に記載）や成形直前に輻射加熱で金型表面を加熱して成形する射出成形方法（成形加工シンポジウム'95、241<1995>、成形加工'96、69<1996>、合成樹脂、42巻（1）、48<1992>等に記載）などの金型表面を加熱して成形する射出成形方法も、金型温度を低く設定し、高周波誘導加熱やハロゲンランプ等の熱源により成形直前に金型表面だけを選択的に加熱して、型表面転写性と成形サイクルの両立をはかれる成形方法であり、本発明の有機ポリマー製の平板の製造に好ましい成形方法である。

【0042】本発明の有機ポリマー製の平板を、特開平6-283830の回路基板を製造する方法に基づいて製造することも可能である。この方法によれば、厚いレジストで飛来する粒子の方向が垂直方向にそろうため、通常の薄いレジストに比べてシャープな加工が可能で、高アスペクト比の溝を作ることが出来る。また、樹脂基板上に感光性レジストを塗布し、溝以外の部分を露光した後、未硬化部分を除去して、溝の形状のレジストパターンを基板上に形成する手法も可能である。

【0043】チップ成形用の金型は、鉄又は鉄を主成分とする鋼材、アルミニウム、又はアルミニウムを主成分とする合金、亜鉛合金、ベリリウム-銅合金等の一般に合成樹脂の成形に使用されている金属金型が良好に使用できる。

【0044】金型作製方法の1つの例を挙げると、まず、金属、プラスチック、シリコン又はガラス等の材料からの切削加工やエッチング加工、又は紫外線硬化樹脂のフォトリソグラフィ加工等の方法により、目的とする微細な溝を有する有機ポリマー製の平板の表面形状を有する母型を1つ作成し、この母型からニッケル等の電気化学的鍍造法により作製される。また前述の特開平6-283830のレジストパターンを形成する方法を用いて金型を作ることも可能である。金属基板にレジストパターンを形成した後、レジストの無い部分を金属メッキで埋め、レジストを除去して、基板表面に微細なパターンを施した、金属板を形成する。この金属板を金型にして、樹脂の加工を行う事が可能である。

【0045】本発明の表面に液体が流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板を有するチップは、溝内面を、ポリエチレングリコールのグラフト重合などで蛋白吸着防止処理をしてもよいし、後述する電気浸透流を送液手段として使う場合は、安定した電気浸透流を発生させる表面処理を行っても良い。

【0046】また、本発明の表面に液体が流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板を有する装置及びキャピラリー装置は、送液方法として、電気浸透流(EOF)を

用いた場合あるいは電気泳動分離を行う場合は、金属針、金属板や金属箔などからなる金属製電極、導電化処理された無機または有機ポリマー製電極或いは導電性インクで印刷された電極を、張り合わせる平板や、表面に溝を有する有機ポリマー製平板の表面に設けても良い。この場合は、溝、及び、溝の端または途中に設けられた液溜（試薬、検体、緩衝液、廃液などを入れる）に接する電極、検出装置と連結できる電極及びそれら電極間のリード線も、チップ内に装備することが好ましい。

【0047】金属針を挿入する場合は径0.1～1mmφで平板の溝近傍まで達する長さの白金、銅、真鍮、アルミや鉄などの針、針や鳩目（ハトメ）状のもの等を導入導出孔内に固定することが好ましい。導電性インクの場合は金、銅、ニッケル、カーボンブラック、グラファイト等の微粒子を含有したインクを、真空蒸着やスパッタ成膜では金や白金を孔内壁全面または一部いずれの場合も深さは平板の溝の近くまで達するように印刷あるいは蒸着する。この際、孔をテーパ状にしておけば平板を傾けることなく内壁に電極を形成することができる。

【0048】また上記電極以外に、チップをはめ込む検出装置内の電源端子と連結するための電極及びそれらの電極間のリード線も導電性インクや真空蒸着、スパッタ成膜で形成できる。また銅板等の薄板を張り付けておいて、エッチングで配線パターンを形成したり、パターン形成した銅箔等を板上に転写あるいは張り付けしても形成できる。

【0049】また、溝を有する平板や溝を内側に張り合わせる平板以外の第3の平板や成形品に上記と同じ様な方法で電極及び／又は配線を形成し、この第3の平板や成形品を合わせることによって、電極及び／又は配線を装備している装置とすることも出来る。

【0050】いずれの場合でも、高電圧を印加した際の発熱が、電気浸透流や電気泳動に影響をおよぼさない程度に抑えられるように、材質と大きさを選ぶことが必要である。

【0051】次に、本発明の光熱検出装置について明細な説明を行う。図3に、光熱変換現象に基づき形成される熱レンズを用いた検出法の原理を示す。レンズにより集光されたレーザー光を試料に照射すると光励起により試料に含まれる測定対象物より熱が発生し、その熱によりレーザーの焦点付近の屈折率が低下する。熱拡散などの効果により屈折率の空間分布ができる。この領域を通過する光は屈折率の分布により直進せず、光学的にレンズが生じたのと同じ効果を生じさせる。この仮想的なレンズの効果を熱レンズ効果と呼ぶ。例えば、水のように屈折率の温度係数が常温付近で負の物質の場合、凹レンズが生じたのと同じ効果を示す。レンズ効果の強さ（レンズの度）は発生する熱量に比例、すなわち励起した分子の数に比例する。そこで、別のプローブレーザー光を入射すると、レンズ効果により、プローブレーザー光は

本来の光路より拡がったり狭まったりする。このプローブレーザー光の変化の大きさから、発熱量、すなわち測定対象物の吸光量を測定でき、測定対象物の定量化が可能となる。原理的に熱レンズは励起レーザー光の焦点付近に形成されるため長い光路長を必要とせず、微小領域内の試料の検出に適する。

【0052】先述したように、微細な溝を有する有機ポリマー製の平板の溝は幅、深さが1-1000 μm 程度なので、平板面の上下(角度は必ずしもチップ面に垂直である必要はない)方向での、つまり、液体の流れと垂直または斜め方向での、光路長は溝の深さ程度までしか取れないが、光熱変換法を用いれば、この程度の光路長で十分高感度で対象物質の検出が可能である。光熱変換法は、光路長を長く取るための複雑な流路構造を作る必要のない、即ち安価なチップで、また、半導体レーザーとフォトダイオードの組み合わせなど安価で簡単な光学系の検出装置で検出が可能である。

【0053】光熱変換法を用いた検出装置としては、検出対象物質が吸収する波長を有し、熱レンズを形成させるのに十分な出力を備えた励起光源がまず必要である。励起光源はキセノンランプなどから、必要とする波長の光をプリズムを用いて取り出しても良いし、検出対象物質を励起することが可能な波長を有するレーザーでもよい。レーザーとしてはHe-Neレーザー、Arレーザー、炭酸ガスレーザー、ヤグレーザーなども用いられるが、半導体レーザーを用いると、検出装置が小さくなり、POCの用途に適する。プローブ光の光源は、励起光よりも出力は小さくてもよいし、波長は励起光と同じでも違っていても良い。励起光、プローブ光ともにキャピラリー流路中に焦点を結ぶようにするために、集光レンズが必要である。

【0054】熱レンズによるプローブ光の変化は、フォトダイオード、CCDカメラ、光電子倍增管などで捉えられる。フォトダイオードが検出装置の小型化には適している。

【0055】励起光はチョッパー等で1 μs 程度のパルス光にされ、そのチョッパーと同調するロックインアンプなどで、プローブ光の変化のみを取り出す。ロックインアンプは、単機能の半導体素子などで簡略化が可能である。また励起光のパルス化は、半導体レーザーを電気的に変調させてもよい。また、プローブ光の検出の際、一般にはロックインアンプを用いるが、特開平9-229883に開示される暗視野型高熱変換分光分析装置の方法を用いて、遮蔽板でポンプ光およびプローブ光の光軸付近の光束を遮蔽し、熱レンズによって発散されたプローブ光のみを検出する手段をとってもよい。或いは、励起光のパルスに合わせて機能を絞ったLSIなどに置き換えてもよい。

【0056】チョッパーによりパルスとなった励起光によって形成される熱レンズの変化を、プローブ光で検出

する際に、プローブ光中の振動成分(励起光のパルスと同一周波数)のみを検出することにより、散乱などによって光の絶対量Iが減少しても、光量Iに対する振動成分i比(i/I)は不変となり、安定して正しい値を得ることが可能となる。

【0057】検出対象は、励起光を吸収するものであれば、何でも良いが、検体中の他の物質、特に励起光を吸収するものや、プローブ光を吸収またはプローブ光の波長に蛍光などを持つ物質とは、光熱変換までに分離しておくことが必要である。励起光を吸収する度合いは、モル吸光係数が1000から100,000程度あることが感度の点で望ましい。

【0058】励起光を吸収しない、或いはわずかししか吸収しない検出対象物質は、検出対象物質を基質とする酵素を用いた反応を組み合わせ、励起光を吸収する物質(可視光の場合は色素)に変換して測定するか、或いは、検出物質対象に対する抗体を用いて、励起光を吸収する物質でその抗体または2次抗体を標識して、直接、若しくは酵素反応の結果生じる励起光を吸収する物質を測定する。

【0059】例えば、検出対象物質として生物学的材料を検出する場合、検出対象物質を基質とする酵素反応を組み合わせ、最終的にN-エチル-N-(3-メチルフェニル)-N'-アセチルエチレンジアミン(EMAE)、N-エチル-N-(3-メチルフェニル)-N'-スクシニルエチレンジアミン(EMSE)、N-エチル-N-(3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン(DAPS)、N-(3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン(HDAPS)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン(DAOS)、N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン(HDAOS)、N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン(HSDA)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メチルアニリン(TOPS)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3-メチルアニリン(TOOS)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメチルアニリン(MAPS)、N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメチルアニリン(MAOS)、N,N-ビス(4-スルホプロピル)-3,5-ジメチルアニリン(MADB)、N,N-ビス(4-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン(DADB)等と4-アミノアンチピリンの縮合体である励起光を吸収する物質、若しくはビス{4-[N-3'-スルホ-n-プロピル]-N-n-エチル}アミノ-2,6-ジメチルフェニル}メタン(Bis-MAPS-C2)、ビス{4-[N-3'-スルホ-n-プロピル]-N-n-プロピル}アミノ-2,6-ジメチルフェニル}メタン(Bis-MAPS-C3)、ビス{4-[N-3'-スルホ-n-プロピル]-N-n-ブチル}アミノ-2,6-ジメチルフェニル}メタン(Bis-MAPS-C4)等の励起光を吸収する物質に変換する事なども可能である。(Aoy

ama, N. 臨床検査, 41:1014(1997))これら反応をチップ内で行う際に、反応試薬溶液はチップの外から、チューブや針を用いて供給してもよい。或いは、チップ内にビニル袋(材質はポリエチレン、ポリプロピレン、ポリエステル、ナイロン、塩化ビニルなどで、反応試薬と相互作用しないものならよい)等の小さい容器に封入した反応試薬溶液をセットしておき、チップ内の針をチップ外から押しつけるなどして該袋等を破って、チップ内の反応試薬溜を満たしてもよい。さらには、反応試薬を乾燥固体としてチップ内に封入しておき、チップ内または外の水または緩衝液溜から水または緩衝液を反応試薬固体封入場所に所定容積導入して、所定の濃度の反応試薬とする方法などがある。

【0060】検体はそのままチップに入れても良いし、河川の汚濁分析や尿分析などでは前処理として、分子量で分画可能な膜フィルターなどを用いて濃縮してもよい。また、チップ上にフィルターを設け、検体中のゴミや、血球などを除去してからキャピラリーに導いても良い。

【0061】検体を、チップ中で、ゲルを用いたり、或いは溶液のまま電気泳動によって各構成成分に分離したり、また、イオン交換などで分離してもよい。溝中を、どうやって液送りするか(送液手段)については、電気浸透流(横川アナリティカルシステムズ(株)刊キャピラリー電気泳動入門や講談社刊キャピラリー電気泳動に詳しく記載されている)を用いて電圧をかけることによって送液してもよいし、キャピラリー装置外部の送液ポンプ(シリンジポンプやチューブポンプなど)や吸引ポンプの力で送液してもよい。

【0062】送液、吸引ポンプでチップ中キャピラリー内の送液を行うためには、さまざまなバルブを用いて制御するのがよい。チップ内での反応や分離を、精度良く制御するために、電気浸透流の採用は好ましい実施態様の一つである。

【0063】電気浸透流は、本発明の送液手段として以下に記載する3つの理由により、特に適している。電気浸透流は、外部から電極を通して電気をかける事により、送液がコントロールできし、また、電圧の制御により、送液を細かく即応的にまたプログラマブル(経時的に設定した流量変化をもたらせる)にコントロールできる。外部ポンプを用いた時の流れが、壁面との摩擦の影響で放物面的なプロフィールを持つのと対照的に、電気浸透流では、流れの駆動力がキャピラリーの内壁に沿って分布するため、流れは均一である。電気浸透流を送液駆動力として使うと、キャピラリー装置に単に長い流路を設けるだけで、送液と同時に、試料の分離処理を同時に行うことも可能である。

【0064】本発明に係る分析装置を用いて、医療現場でベッドサイド診断や、外来患者が受診当日にその日の検査結果を知らせ、その結果に基づく治療薬、治療方

法の選択が行える。また、河川の汚濁、廃棄物中の有害物質の定量定性分析等も、汚染現場で行える。さらには、輸入食品の通関時の汚染検査や、調理現場での即時的な分析も可能となる。検出対象物質は、化学物質、蛋白、核酸など特に問わないが、環境汚染化学物質、血液・髄液・唾液や尿中に含まれる生体成分、臓器・組織・粘膜由来の生体成分、感染源となる菌やウイルスなどの蛋白、DNA、RNA、アレルゲン、種々の抗原等が対象となりうる。

【0065】

【発明の実施の形態】以下に実施例を用いて本発明の効果をさらに具体的に説明する。

【0066】

【実施例】本発明の一実施例として血清中のトータルコレステロールの定量測定を検体とトータルコレステロール検出キット(商品名 コレステロールE-HAテストワコー(和光純薬(株)製))の2つの検出反応試薬溶液の流量制御で行った例を示す。送液は電圧の印加による電気浸透流で行った。

(キャピラリー装置の作成)キャピラリー装置の表面に溝を有する平板は射出成形により成形する。

【0067】射出成形に使用した樹脂は、メタクリル樹脂(旭化成工業製デルベット 80NH)である。ガスとしては純度99%以上の二酸化炭素を使用する。

【0068】成形機は住友重機械工業製SG50を使用する。金型装置は図4に示す装置を使用する。成形品は、厚み5mmで縦横が120mm、80mmの長方形平板である。図4において、金型1の金型キャビティ3の周囲にはパーティング面の隙間2を通して金型キャビティに二酸化炭素を吸排気する吸排気用溝4があり、該吸排気用溝4は二酸化炭素の供給源と金型外通気用穴5を通してつながっている。金型キャビティの外側には金型キャビティを加圧状に保持するためのOリング溝6があり、その中にOリング7を設置する。金型通気用穴5はガス体導管11を通して二酸化炭素源9につながっている。ガス体導管11には圧力計10と安全弁8が連結されている。

【0069】金型表面は、入れ子あるいはスタンパー12で形成され、該入れ子あるいはスタンパー12の表面は微細なキャピラリー電気泳動用チップの形状に加工されている。その微細な形状は、図5に示す形状であり、a-a'の溝形状は、幅301μm、深さ50μm、断面積14500マイクロm²の台形の突起状である。樹脂はランナを経てゲートから金型キャビティに射出される。

【0070】金型表面状態の転写性は、光学顕微鏡による観察、レーザー顕微鏡による形状測定で評価する。また、成形品も、光学顕微鏡による観察、切断断面の溝形状の光学顕微鏡や電子顕微鏡での観察、レーザー顕微鏡による形状測定等で観察する。

【0071】図4に示す金型装置を用い、金型キャビティ表面温度80℃の金型内に、二酸化炭素を5.0MPaの圧力に満たし、次いで樹脂温度240℃のメタクリル樹脂を射出し、シリンダ内樹脂圧力80MPaで10秒間保圧し、20秒間冷却した後成形品を取り出す。金型に満たした二酸化炭素は、樹脂充填完了と同時に大気中に開放して、表面に溝を有する平板を成形した。

【0072】得られた成形品の表面は、平滑であり、スタンパーのa-a'に相当する部分の転写された溝は、幅303.0μm、深さ49.7μm、断面積14300μm²であった。従って、幅および深さが2%以内、断面積が4%以内の寸法精度で溝が転写されていた。

【0073】成形された平板は縦120mm、横80mm、厚み5mmで図6に示す様なパターンの溝が形成されている。液だめのための直径3mmの貫通孔が4カ所あり、それぞれ、液だめ13は検体用、14は試薬1用、15は試薬2用、16は廃棄用である。液だめ13には血球分離フィルターが装着されており、検体（全血）を滴下すると検出を妨害する血球が除かれ、血漿がキャビラリーに送られる。溝の大きさは溝17幅15μm 深さ10μm 長さ1cm、溝18幅200μm 深さ50μm 長さ1cm、溝19幅203μm 深さ50μm 長さ3cm、溝20幅100μm 深さ50μm 長さ4cm、溝21幅303μm 深さ50μm 長さ5cmである（溝20との合流点から検出部までの長さ）。

【0074】この成形品と200μm厚みのメタクリル樹脂シートをホットメルト接着剤によって張り合わせてキャビラリー装置を作成する。つぎに平板の反対側（貫通孔のある側）に銅粒子を含んだ導電性インクで配線及び検出装置内の電源端子接続用電極を印刷し、液だめ用電極として白金メッキされた真鍮製鳩目をセットしキャビラリー装置を完成する（図7）。図8は図7のc-c'の断面図である。検出装置には液だめ13から16に所定の電圧を印加できるような電源装置が装備され、また図7の23の位置で光熱変換法による検出ができるよう検出器が装備されており、さらに検出データから測定結果を計算しアウトプットするプリンターも備えている。

（標準血清の調製）協和メディックス社脂質測定用標準血清の調製法を一部改変して調製した。具体的には、1バイアルの凍結乾燥品を付属の標準血清溶解液851μlを用い溶解し、計算値でトータルコレステロールが800mg/dlになるように調製し、ストック溶液とした。次にストック溶液を付属の標準血清溶液で希釈し、計算値で200mg/dl及び50mg/dlのトータルコレステロールを含む溶液を調製した。

（検出キットの調製）HAテストワコーコレステロールE-HAテストワコー（和光純薬工業（株））を用い、付属のプロトコルに従った。

（トータルコレステロールの検出）液だめ16に緩衝液

を約200μl滴下し、キャビラリー全体が緩衝液で満たされた後、液だめ14に試薬1を約200μl、液だめ15に試薬2を約200μl、液だめ13に検体を約200μl滴下した。液だめ16に対して13～15の電極に100HVを印加し、液だめ13～15から16へ電気浸透流を発生させた。このとき各溝における流量は溝17 1.5nl/min、溝18 100nl/min、溝19 101.5nl/min、溝20 50nl/min、溝21 151.5nl/minとなる。検体と試薬1との反応時間は3分必要だが、検体が試薬と混合され溝を進む間で反応が完結するようあらかじめ設定しておく。検体と試薬2との反応も同様に5分必要だが、溝通過中に反応が完結するようあらかじめ設定しておく。いずれの場合も流路の長さ及び印加電圧の調整により設定が可能である。反応が終了した検体を図7の検出部23で後述のレーザ励起波長633nm、検出波長750nmの光熱変換法により検出した。

【0075】流路容積の補正が必要な場合はキャビラリー装置内の検体の液だめの近くに標準サンプル用の液だめを準備しておき、検体の測定前または後に標準サンプルを試薬1、2とともに送液・反応し検出して補正する。

（光熱変換検出系の構成）使用した光熱変換原理に基づく検出系を図9に示す。

【0076】顕微鏡にはステージ上での試料の取り扱いの容易さを勘案し倒立型顕微鏡（IX70、Olympus製）を使用した。これは別に落射型の顕微鏡であっても構わない。この顕微鏡は、顕微鏡外の光学系で同軸にされたレーザ光を導入できるよう改造を加えてある。レーザは励起用にはHe-Neレーザ（633nm、10mW、エドモントサイエンティフィック製）を、検出用にはチューナブルな色素レーザ（750nm、スペクトロンレーザシステム製）を使用した。これらレーザは使用する試薬、生成する反応物の吸収スペクトルにより適当な周波数のものを利用すればよい。またレーザはガス、固体、半導体などの種類を選ばない。ミラー、ビームエキスパンダー等の光学系はメスグリオ社製品で統一した。励起用のレーザ光はライトチョッパーにより変調された後、ダイクロイックミラーにより検出用レーザと同軸にされ、顕微鏡に導かれ試料に照射される。試料を照射した後、励起用、検出用で同軸にされていたレーザ光の内、励起光のみ選択的にフィルターにより除去しフォトセンサーに導く。レーザ光受光部分の素子には取り扱いの簡便性を考えファイバー付きのフォトセンサーアンプ（C6386、浜松ホトニクス社製）を使用した。このフォトセンサー受光部はピンホールを持つカバーで覆われている。フォトセンサー及びセンサーアンプからの出力は低雑音プリアンプ（LI-75A、エヌエフ回路ブロック社製）で増幅した後、ロックインアンプに導かれ信号処理が行われる。

【0077】本検出系を用いた検出の手順は以下であ

る。図6に示したような、表面に溝パターンを形成してある平板を有するキャピラリー装置を倒立顕微鏡のステージ上に置く。対物レンズの焦点合わせは励起用レーザーを使用しモニター画面を参照しつつ溝パターンの上辺、下辺の位置での焦点合わせを実施したのちその中間点をもって溝の中心位置とした。焦点合わせを実施した後、上記に詳述したような検体と検出用試薬との反応を行わせ、反応生成物を含む溶液を検出部分に導く。励起用レーザーはライトチョッパーにより1 kHzに変調され、溝パターン内反応生成物を励起し発熱過程を生じさせる。このライトチョッパーによる変調の周波数はSN比等の影響により変更することも有り得る。この発熱過程により発生した熱レンズにより検出用レーザーの焦点位置がずれ、それによりピンホールを通してフォトセンサーの受光量が発熱量に応じ変化する。測定時、試料の流れは停止させても、流した状態でも構わないが、本実施例では停止させて測定を行った。フォトセンサーからの信号はロックインアンプにより処理されるがここでは時定数として1秒を用い、ライトチョッパーと同じ周波数1 kHzの信号のみ選択的に出力として用いた。ロックインアンプの出力電圧は励起光により励起される反応生成物濃度に比例するため反応生成物の定量化が可能である。本実施例の結果では、800mg/dlと50mg/dlのトータルコレステロールを含む標準血清による5回の測定により検量線を作成し、200mg/dl相当のトータルコレステロールを含む標準血清20回の測定を行ったところCV値3%の値が得られた。以上の結果より、当該「混合分析装置」を用いて検体中のトータルコレステロールを再現よく検出することが出来た。

【0078】

【発明の効果】本発明の分析装置は、量産性が良く且つ取り扱い性の良い表面に液体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板を有するキャピラリー装置と高感度で小型化が容易な光熱変換検出装置からなる分析装置であるため、廃棄物性に優れ安価で簡便かつ短時間に分析が出来、POCに適した分析装置を提供できるものである。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の表面に液体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板における一定量のサンプリングを目的とした流路部分の形状を示す図である。

【図2】本発明の表面に液体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板における一定量のサンプリングを目的とした流路部分の形状を示す図である。

【図3】光熱変換現象に基づき形成される熱レンズを用いた検出法の原理を示す図である。

【図4】本発明の表面に液体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板を成形する金型装置の断面を示す図である。

【図5】本発明の表面に液体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板を成形する金型の金型表面部に加工された、溝からなる流路を成形（転写）するための微細形状を示す平面図（a）と、その微細形状のa-a'断面の形状を示す断面図（b）と、b-b'断面の形状を示す断面図（c）である。

【図6】PMMAの射出成形により成形された表面に液体の流れる微細な溝を有する有機ポリマー製の平板の溝形状を示す図である。

【図7】PMMAの平板を張り合わせ、導電性インクで配線と液だめ用電極及び検出装置内の電源端子接続用電極を印刷したキャピラリー装置の平面図である。

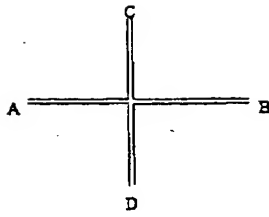
【図8】図7のc-c'の断面図である。

【図9】光熱変換原理に基づく検出系構成図である。

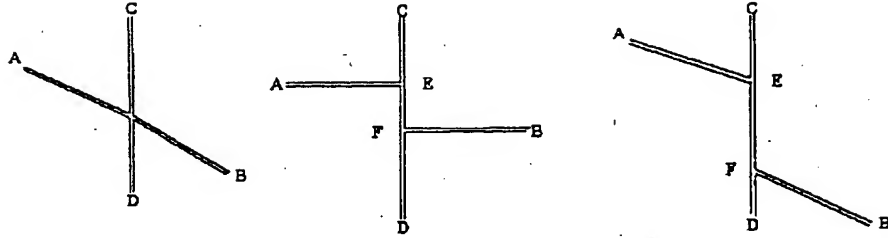
【符号の説明】

- 1 金型
- 2 金型キャビティ
- 3 隙間
- 4 吸排気用溝
- 5 金型外通気用穴
- 6 Oリング用溝
- 7 Oリング
- 8 安全弁
- 9 二酸化炭素源
- 10 圧力計
- 11 ガス体導管
- 12 スタンパー
- 13 検体用液だめ
- 14 試薬1用液だめ
- 15 試薬2用液だめ
- 16 廃液だめ
- 17～21 キャピラリー形成用溝
- 22 配線
- 23 検出部
- 24 電極
- 25 溝有する平板
- 26 張り合わせたシート
- 27 キャピラリー

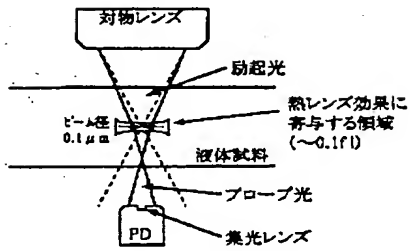
【図1】



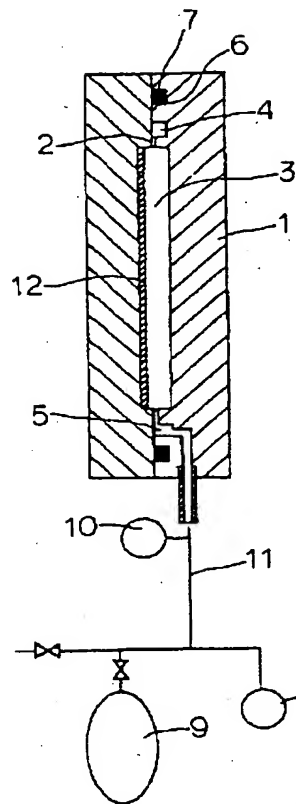
【図2】



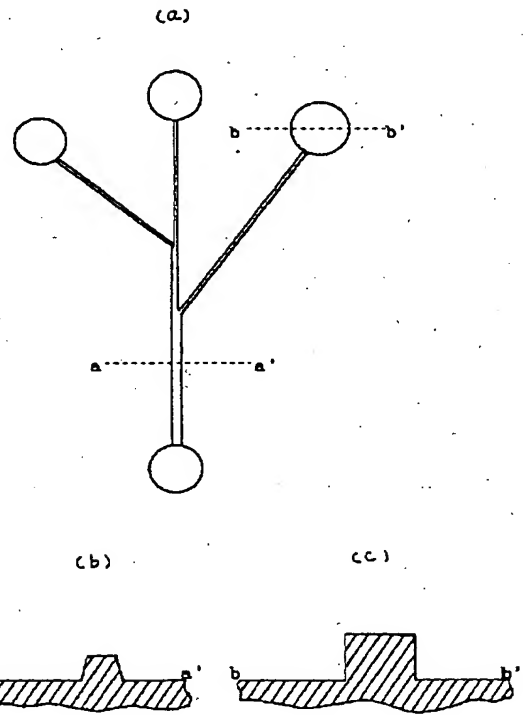
【図3】



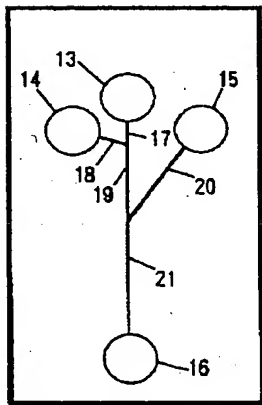
【図4】



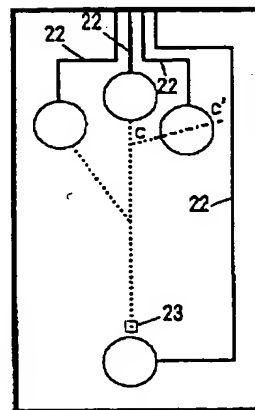
【図5】



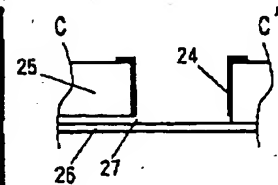
【図6】



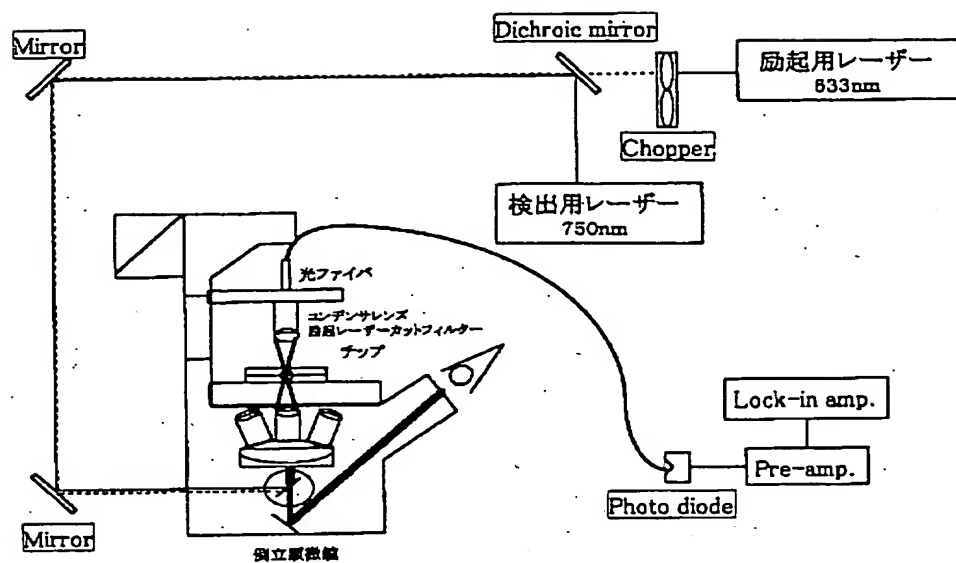
【図7】



【図8】



【図9】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G040 AA02 AB08 AB12 BA24 EA06
 EB02 EC02 FA01 GA05 GC01
 ZA01
 2G059 AA01 BB04 BB12 DD03 DD12
 EE01 EE20 GG01 GG07 JJ03
 JJ07 JJ24 KK01 KK02 KK04

THIS PAGE BLANK (USPTO)